Aus der Medizinischen Klinik der Universität
Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Vergleichende elektrophoretische und immuno-elektrophoretische Studien an Organextrakten des menschlichen Magens

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN-NÜRNBERG 1963

Vorgelegt von
Ingrid Dübeler
Schwandorf

* D 29

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning
Dekan: Prof Dr. med. G. Theissing
Tag der mündl. Prüfung: 13. 9. 1963

Meinen Eltern in
Dankbarkeit gewidmet

Gastroenterologia *98:* 30–47 (1962)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. *N. Henning*)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Vergleichende elektrophoretische und immunoelektrophoretische Studien an Organextrakten des menschlichen Magens

Von H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH und I. DÜBELER

Elektrophoretische und auch immunoelektrophoretische Untersuchungen der normalen Magenschleimhaut und Magenwand sind zwar vereinzelt schon früher vorgenommen worden [1, 2, 3, 7, 11, 12), doch liegen bislang keine systematischen Untersuchungen, insbesondere vom pathologisch veränderten Magen vor.

Die folgenden Untersuchungen sollten der Klärung der Frage dienen, ob und in welchem Ausmaß Unterschiede in der Relation der Proteine der Magenwand und -schleimhaut unter normalen und pathologischen Bedingungen nachweisbar sind. Im einzelnen wurden hierzu vergleichende Untersuchungen an Operationspräparaten des normalen und des pathologisch veränderten Magens vorgenommen. Als Untersuchungsmethoden wurden Papierelektrophorese, Immunoelektrophorese sowie verschiedene Farb- und auch Fermentreaktionen angewandt. Wie in früheren Untersuchungen [11, 12] an menschlichen Organextrakten gezeigt werden konnte, eignet sich insbesondere die Kombination von Elektrophorese und immunologischer Technik für derartige Fragestellungen.

Untersuchungsgut, Versuchsanordnung und Methodik:

1. Untersuchungsgut:

Es wurden insgesamt 10 Operationspräparate frisch resezierter Mägen sowie die jeweils vor der Operation entnommenen Magensäfte untersucht*. Von den Operationspräparaten wurden Magenwand und Magenschleimhaut getrennt verarbeitet. Darüber hinaus wurde in jedem Falle die histologische Diagnose festgestellt**.

* Für die freundliche Überlassung der Operationspräparate sowie der Magensäfte danken wir herzlichst Herrn Prof. Dr. *Hegemann*, Direktor der Chirurgischen Univ. Klinik Erlangen.

** Die histologischen Schnitte verdanken wir dem Pathologischen Institut der Universität Erlangen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536505_0023

2. Versuchsanordnung:

Von jedem Operationspräparat wurden Magensaft, Magenschleimhaut und Magenwand vergleichsweise mit einem Serum vom Menschen elektrophoretisch im Agargel aufgetrennt und färberisch, mit Fermentmethoden sowie immunologisch differenziert. Parallel dazu erfolgte die Untersuchung mit Hilfe der Papierelektrophorese.

3. Methodik:

a) Aufbereitung der Organe und des Magensaftes:

Es wurde zunächst das frische Operationspräparat 2 Std. lang in mehrfach gewechselten Bädern gewässert, danach die Schleimhaut von der Muskulatur durch vorsichtiges Abschaben abpräpariert.

Weitere Aufbereitung der Magenschleimhaut:

Das abgeschabte Magenschleimhautmaterial wurde nun zusammen mit einigen ml physiologischer Kochsalzlösung in einer Porzellanschale mit einem Mörser zu einer homogenen Masse verarbeitet und anschließend durch ein feinporiges Sieb (0,5 mm^2 Porengröße) gepreßt. Dieses Substrat wurde im Verhältnis 1:1 mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und unverzüglich 20 min lang bei 3500 U/min und Laboratoriumstemperatur zentrifugiert. Der Überstand und die oberste Schicht des Sediments – die im übrigen infolge ihrer schleimigen Beschaffenheit, ganz im Gegensatz zur Bodenschicht, leicht löslich war – wurden nun durch Dialyse * gegen 20 %iges Kollidon über Nacht im Kühlschrank bei + 4° C auf eine mindestens 2- bis 3 %ige Eiweißlösung eingeengt. Dieser Organextrakt wurde der Analyse unterworfen.

Aufbereitung der Magenwand:

Die Muskulatur der Magenwand wurde in Schichten durch kräftiges Schaben zerkleinert. Im weiteren erfolgte die Aufbereitung der Magenwand analog der der Schleimhaut.

Aufbereitung des Magensaftes:

Der Magensaft wurde zur Bereinigung von groben Partikeln, wie Blutkörperchen und Zelldetritus, 20 min bei 3500 U/min und Laboratoriumstemperatur zentrifugiert. Der so gewonnene, im allgemeinen klare Magensaft wurde anschließend eingeengt; da erfahrungsgemäß die Eiweißkonzentrationen in den zur Verfügung stehenden Magensäften minimal waren, mußte auf eine Gesamteiweißbestimmung als Maß für die Einengung verzichtet werden. Es wurde infolgedessen prinzipiell jeder Magensaft jeweils auf ein Siebtel der Ausgangsmenge eingeengt.

b) Papierelektrophorese:

Die Papierelektrophorese wurde nach den bekannten Angaben von *Grassmann und Hannig* bei einer Gleichspannung von 90 bis 110 V und Laboratoriumstemperatur unter Verwendung des Michaelis-Puffers pH 8,6; Ionenstärke $\mu = 0{,}1$ über eine Trennzeit von 14 h vorgenommen.

---

* Dialysiermembranen der Membranfiltergesellschaft Göttingen.

c) Einfache Elektrophorese im Agargel mit Färbemethoden:

Es wurden die Extrakte aus Magenschleimhaut, Magenwand und Magensaft zunächst mit der einfachen Elektrophorese im Agargel aufgetrennt. Hinsichtlich der Technik dieser Elektrophorese wird auf die einschlägige Literatur hingewiesen. Zur Charakterisierung der einzelnen Komponenten wurden anschließend folgende Färbungen und Fermentreaktionen vorgenommen:

Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10B [5]
Lipoidfärbung mit Sudan-Schwarz B [5]
Kohlenhydratfärbung [10, 15, 16]
Coeruloplasmindarstellung (Fermentreaktion) [9, 10, 14]
Fermentreaktion der alkalischen Phosphatase [13]

d) Immunoelektrophorese:

Mit den Extrakten aus Magenschleimhaut, Magenwand sowie dem jeweils zugehörigen Magensaft wurden weiterhin immunoelektrophoretische Analysen vorgenommen. Über methodische Einzelheiten der Immunoelektrophorese nach *Grabar und Williams* wurde in der Literatur bereits mehrfach und ausführlich berichtet [5, 6]. Es erübrigt sich infolgedessen an dieser Stelle eine Wiedergabe des Arbeitsganges.

Ergebnisse:

1. Papierelektrophorese

a) Magenschleimhaut:

Bei *Proteinfärbung* lassen sich nach Trennung eines Extraktes von Magenschleimhaut im Vergleich zu einem unter denselben Bedingungen aufgetrennten Serum folgende 10 Komponenten abgrenzen (Optimalfall): Zwei vor dem Albumin wandernde Komponenten, wovon die erste, ρ_2, relativ breit und schwächer, die der Albuminfraktion nähere, ρ_1, schmalbasiger und stärker konzentriert erscheint, eine deutliche, mit der Mobilität der Albumine wandernde Fraktion, drei nur wenig scharf gegeneinander abgrenzbare α-Fraktionen, ein starkes β-Globulin und im Bereich der γ-Globuline meist 3 Komponenten. Es imponieren bei der Proteinfärbung somit im wesentlichen die Albumin- und die β-Globulinkomponente; auffällig sind auch die Albuminvorfraktionen (vgl. u.a. Abb. 1).

Bei *KH-Färbung* fallen im wesentlichen zwei Komponenten auf, die eine im Bereich der Albuminfraktion, die andere, vielfach stärker angefärbt, im γ-Globulinbereich. Die übrigen Fraktionen sind mit der KH-Färbung weniger intensiv darstellbar, am schwächsten die α_1-Fraktion. Bei kombinierter KH- und Proteinfärbung auf Papier fällt darüber hinaus insbesondere der deutlich rotviolette Farbton im Be-

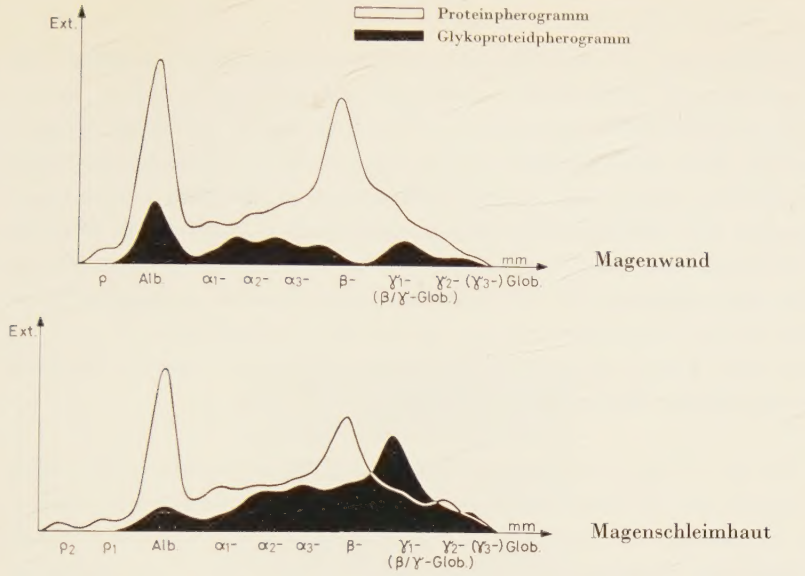

Abb. 1 zeigt eine Gegenüberstellung der Protein- und Glykoproteidpherogramme von Magenwand- und Magenschleimhautextrakt eines histologisch normalen Organes (Magenresektion wegen chronisch rezidivierender Ulcera).

reich der schnell wandernden γ-Globuline (bzw. β/γ-Globulinfraktion) auf (vgl. hierzu Abb. 1).

Bei der *Lipoidfärbung* sind die Ergebnisse bei dem vorliegenden Untersuchungsgut weniger ergiebig, d.h. es läßt sich jeweils nur im Bereich der β-Globuline eine leichte Anfärbung mit Sudanschwarz erzielen.

b) Magenwand:

Bei *Proteinfärbung* des Magenwandextraktes lassen sich im Vergleich mit einem Serum im wesentlichen eine Albuminfraktion, drei α-Proteine, wovon die α_3-Fraktion häufig sehr nahe an der wesentlich stärker anfärbbaren β-Globulinfraktion liegt, eine β-Globulinfraktion und im Bereich der γ-Globuline mindestens zwei, vielfach sogar drei Komponenten von einander abgrenzen; eine Albuminvorfraktion wurde in unseren Fällen vermißt.

Bei *KH-Färbung* läßt sich einwandfrei im Bereich der Albuminfraktion, schwach auch in den übrigen Fraktionen, eine Anfärbung erzielen. Mit der *Lipoidfärbung* ließen sich keinerlei Fraktionen einwandfrei darstellen.

c) Magensaft:

Die Beurteilung des elektrophoretisch getrennten Magensaftes bei *Eiweißfärbung* ist insoferne erschwert, als hier unter den 10 untersuchten Einzelfällen nur zwei einen nachweisbaren Eiweißgehalt aufwiesen. Eine Charakterisierung der dennoch vorliegenden Proteine ist dadurch illusorisch, zumal auch die zur Verfügung gestandenen Mengen eine entsprechende Einengung nicht ermöglichten. Bei den zwei eiweiß-positiven Magensäften waren, abgesehen von einer schwachen Albuminfraktion und ebenfalls nur schwach darstellbaren α-Fraktionen, vorwiegend β- und γ-Globuline nachweisbar.

In allen Fällen konnte bei *KH-Färbung* eine etwa dem β/γ-Bereich angehörende Fraktion aufgezeigt werden.

Bei Überblicken der Einzelbefunde waren in wenigstens drei Fällen typische Abweichungen, insbesondere der Magenschleimhautextrakte, gegenüber den oben beschriebenen Befunden faßbar. Es handelt sich hierbei um fortgeschrittene, die Magenwand diffus durchsetzende Karzinome. An den proteingefärbten Elektrophoresestreifen waren eine deutliche Verminderung der Albuminfraktion mit Zunahme der langsam wandernden α_3- und insbesondere der β-Globuline auffällig (Abb. 2). Die Magenwand zeigte dagegen allenfalls eine stärkere Konzentration der α_3- und in geringem Maße vielleicht auch der β-Globuline; eine nennenswerte Veränderung des Pherogrammtyps war im Vergleich zu dem eines praktisch normalen Magenwandextraktes (Abb. 1) nicht zu erkennen.

2. Agarelektrophoretische Ergebnisse (vgl. Abb. 3)

a) Magenschleimhaut:

Bei *Proteinfärbung* können von der Magenschleimhaut im wesentlichen 5 Komponenten festgestellt werden: ein Komplex vor den Albuminen, eine Fraktion im Bereich der α-Globuline, eine deutlich angefärbte Fraktion im Bereich der β-Globuline, schließlich eine schwächere mit der Wanderungsgeschwindigkeit der γ-Globuline.

Charakteristisch sind bei Vergleich mit einem menschlichen Serum die Albuminvorfraktion(en), die relativ kleine Albuminfraktion und das Hervortreten der β-Globulinfraktion.

Bei *KH-Färbung* läßt sich, weit vor der Albuminfraktion, ein schlierenhaft gewanderter Komplex anfärben, in dem auf Grund gewisser Intensitätsunterschiede zwei Komponenten zu differenzieren

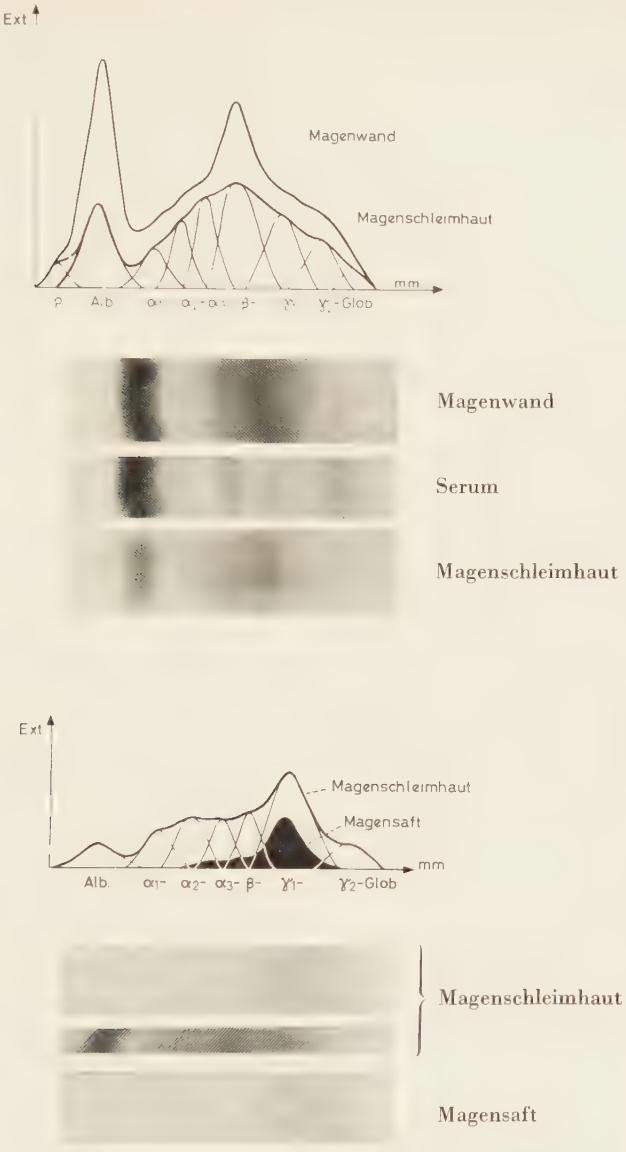

Abb. 2. In Abb. 2 sind Elektrophoresestreifen und Diagramme von Magenwand- und Magenschleimhautextrakt sowie des entsprechenden Magensaftes eines carcinomatös veränderten Magens wiedergegeben; oben nach Proteinfärbung, unten nach Kohlenhydratfärbung. Man erkennt bei Proteinfärbung – insbesondere des Magenschleimhautextraktes – deutlich eine Verschiebung der Albumin/Globulin-Relation zugunsten der Globuline (vgl. auch Abb. 1!).

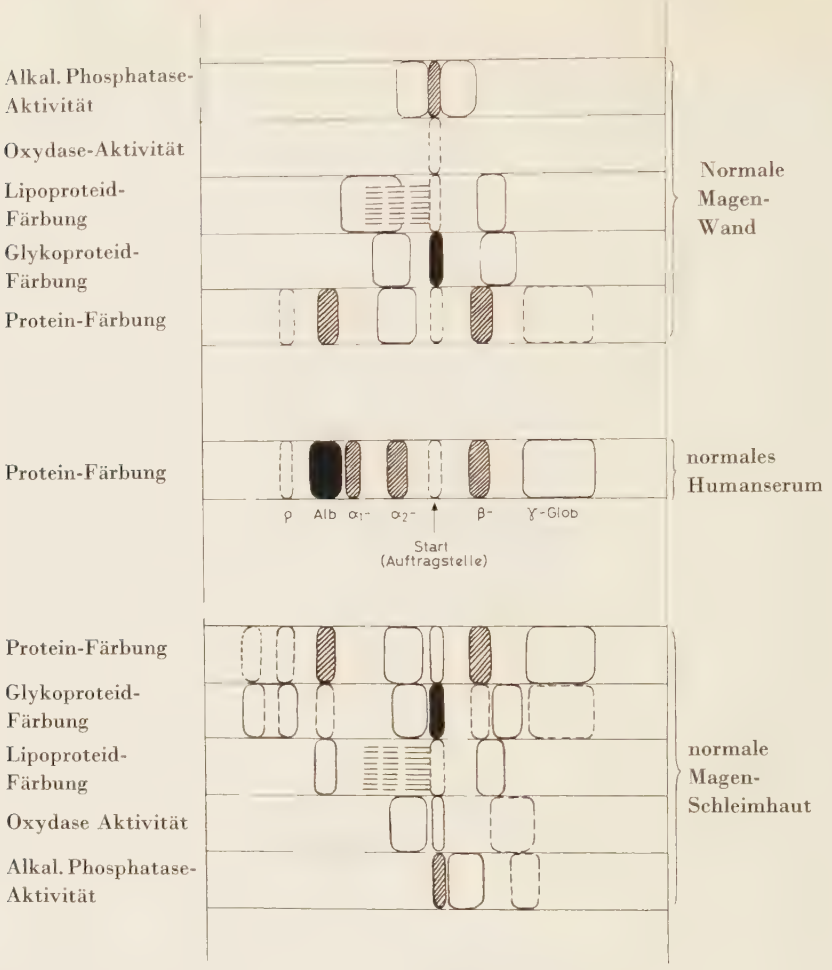

Abb. 3. Schematische Darstellung der agarelektrophoretisch getrennten und mit verschiedenen Färbetechniken bearbeiteten Extrakte aus Magenwand und Magenschleimhaut eines histologisch unveränderten Organes.

NB.: Die vollkommen geschwärzten Komponenten stellen besonders hohe Konzentrationen dar.

Die mit Schrägstrichen ausgefüllten Fraktionen sind weniger intensiv zur Darstellung gelangt.

Die mit durchgezogenem Strich umgrenzten Fraktionen sind zwar noch deutlich sichtbar, jedoch insgesamt schwächer als die vorigen.

Die gestrichelt umgrenzten Komponenten sind entweder nur schwach oder nicht konstant reproduzierbar zur Darstellung gelangt.

Die waagrecht gezeichneten Striche bedeuten Schlierenbildungen.

sind. Weiterhin finden sich im Bereich der α_2-Globuline sowie der langsamer wandernden β-Globuline, und schließlich auch über den ganzen γ-Globulinbereich KH-tragende Fraktionen.

Außergewöhnlich intensiv läßt sich die Auftragstelle anfärben. Neben den beschriebenen KH-gefärbten Komponenten lassen sich im Bereich der Albumine und im Bereich der β-Globuline je eine gelblich gefärbte Komponente abgrenzen. Bei *Färbung mit Sudanschwarz* erkennt man nur an zwei Stellen, einerseits im Bereich der Albumine andererseits im Bereich der β-Globuline, eine schwache Tönung. Bei der *Fermentreaktion auf Oxydaseaktivität* lassen sich, abgesehen von einer Färbung im Bereich des Auftragestriches, noch zwei schwache Brauntönungen aufzeigen, die eine Stelle im Bereich der α_2-Globuline, die andere im Bereich des β+γ-Komplexes.

Bei Prüfung des gewanderten Schleimhautextraktes auf *alkalische Phosphataseaktivität* läßt sich eine solche auf Grund der Farbreaktion relativ stark im Bereich des Auftragestriches, schwach in einer Zone zwischen dem Auftragestrich und den β-Globulinen und andeutungsweise zwischen β- und γ-Globulin nachweisen.

b) Magenwand:

Ähnlich wie beim Magenschleimhautextrakt läßt sich bei *Proteinfärbung* des Magenwandextraktes wieder eine relativ schwach angefärbte Albuminfraktion, ein Proteinkomplex im Bereich der α-Globuline, eine deutlich färbbare β-Fraktion sowie eine breit auslaufende, aber nur schwach darstellbare Komponente mit der Mobilität der γ-Globuline aufzeigen. Eine Albuminvorfraktion ist nur in einem Einzelfalle sichtbar geworden.

Nach *KH-Färbung* sind, abgesehen von einer relativ deutlichen Rotfärbung an der Auftragstelle, im Bereich der α_2 sowie im β+γ-Bereich je eine relativ schwache KH-tragende Fraktion nachzuweisen.

Nach *Färbung mit Sudanschwarz* können schwache Farbreaktionen im Bereich der α_1- und α_2-, minimal auch im Bereich der β-Globuline erzielt werden.

Eine *Oxydaseaktivität* findet man praktisch nur an der Auftragstelle. Dagegen kann eine *Aktivität der alkalischen Phosphatase* in hohem Maße wiederum an der Auftragstelle aber auch kathodenwärts, jedoch allenfalls bis in den Bereich der β-Globuline und auch in der Zone der α-Globuline nachgewiesen werden.

An der Magenwand fallen somit die Komponente im Bereich der β-Fraktion, aber auch des Albumins sowie ein Proteinkomplex im

γ-Bereich auf. Eine eindeutige Vorfraktion war in den von uns untersuchten Fällen praktisch nicht reproduzierbar.

c) Magensaft:

Bei *Färbung des Magensaftes mit Amidoschwarz* ließ sich in 8 Fällen keine Färbung erzielen. Bei den 2 eiweißpositiven Magensaftproben wurden in Spuren Proteine vom Typ der β—γ-Globuline, aber auch Albumine aufgefunden.

Die *KH-Färbung* ließ bei jedem der 10 untersuchten Magensäfte mit Regelmäßigkeit eine relativ scharf begrenzte Fraktion zwischen β- und γ-Globulinen, darüber hinaus an und unmittelbar anodisch von der Auftragstelle erkennen. Meist war außerdem im gesamten β—γ-Bereich vom Start aus eine schwach gefärbte Schliere sichtbar. Die *Farbreaktion auf alk. Phosphatase* verlief mit einer Ausnahme negativ. Bei dieser handelte es sich um einen der vorgenannten eiweißpositiven Magensäfte, hier ließ sich an der Auftragstelle und kathodenwärts etwa bis an die β-Globulinfraktion heranreichend eine geringe Aktivität der alk. Phosphatase nachweisen.

d) Serum:

Das vergleichsweise angesetzte Serum ergab bei *Proteinfärbung* die bekannten 4 bzw. 5 Fraktionen, das α_1-Globulin war nicht immer einwandfrei vom Albumin zu trennen. Bei *KH-Färbung* ließen sich ebenfalls alle Komponenten darstellen, am intensivsten jedoch im Bereich der α_1 und α_2-Globuline.

Bei *Lipoidfärbung* konnten im wesentlichen 2 Komponenten, am stärksten im Bereich der α_2-, weniger intensiv im Bereich der α_1-Globuline festgestellt werden.

Die *Peroxydasereaktion* war ausschließlich an die α_2-Globuline gebunden.

Eine *Aktivität der alk. Phosphatase* ließ sich um die Auftragstelle und kathodenwärts etwa bis zu den β-Globulinen reichend, schwach aber auch in der Zone der α-Globuline nachweisen.

3. Immunoelektrophoretische Ergebnisse:

Immunoelektrophoretisch ließen sich bei Reaktion gegen ein Antihumanserum* im einzelnen folgende Befunde erheben:

* Sérum Equin, Anti-Sérum Humain, Institut Pasteur, Paris.

a) Magenschleimhaut:

Bei Analyse der Magenschleimhaut lassen sich eine Albuminvorfraktion**, eine relativ deutlich auspräzipitierte Albuminfraktion, in deren Bereich meist noch eine fast parallel zu ihr verlaufende, jedoch außergewöhnlich feine Linie zu erkennen ist, nachweisen. Weiterhin lassen sich eine α_1-, eine α_2-Fraktion, zwischen beiden ein wenig scharf begrenztes Präzipitat, das vielfach Beziehung zur Auftragstelle hat, weiterhin eine Linie im Bereich der Auftragstelle, eine deutlich abgrenzbare, verhältnismäßig kurzbogige β-Fraktion, eine zwischen β und γ gelegene Komponente sowie schließlich eine doppelbogige γ-Fraktion, die an der Auftragstelle beginnt, beobachten. Oftmals läßt sich an der ersten Schwingung der γ-Linie ein zarter Ausläufer erkennen. Schließlich werden zwei sehr feine Präzipitationslinien im $\beta+\gamma$-Bereich regelmäßig reproduziert, von denen die eine in weitem Bogen von der Auftragstelle bis in das äußerste Drittel der γ-Fraktion reicht. Insgesamt konnten somit im allgemeinen bei Analyse der Magenschleimhaut 12 Eiweißkomponenten differenziert werden (Abb. 4).

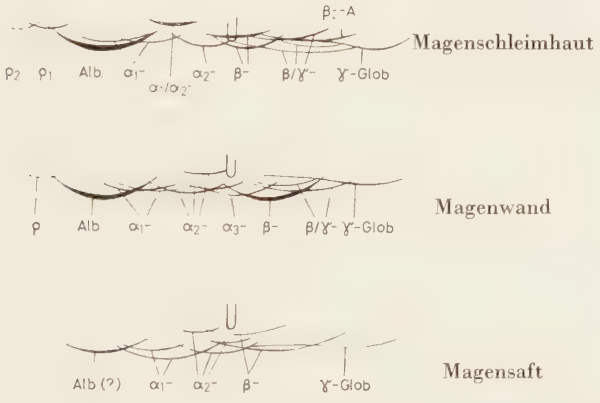

Abb. 4. Halbschematische Darstellung der immunoelektrophoretischen Ergebnisse von Magenschleimhaut, Magenwand und Magensaft eines histologisch normalen Magens. Die von uns untersuchten pathologisch veränderten Organe wiesen vor allem *quantitative* Abweichungen, so z. B. stärkere Präzipitatbildungen im Bereich der β- und γ-Globuline (hier insbesondere bei der Magenschleimhaut), jedoch keine qualitativen Besonderheiten, etwa neu aufgetretene atypische Fraktionen oder Varianten vorhandener Linien, auf.

** in einzelnen Fällen auch zwei Vorfraktionen.

b) Magenwand:

Bei Immunoelektrophorese der Magenwand waren eine Albuminvorfraktion (diese war allerdings nicht in allen Fällen reproduzierbar), eine deutlich darstellbare Albuminfraktion, meist ein bis zwei α_1- und drei α_2-Fraktionen, von welchen die eine, zuinnerst gelegene, weniger scharf begrenzt erschien, auspräzipitiert. Weiterhin ließen sich eine aus dem α_2- bis in den β-Bereich verlaufende Präzipitationslinie, eine in verhältnismäßig weitem Bogen verlaufende β-Komponente sowie zwei weitere, in diesem Bereich sichtbare, jedoch nur sehr fein auspräzipitierte Linien feststellen. Schließlich stellt sich eine am Auftragsstrich beginnende, in ihrem äußersten Drittel etwas bogig verlaufende Linie dar; sie entspricht wohl der γ-Fraktion.

Insgesamt fanden sich bei der Magenwand 12 Proteine.

c) Magensaft:

Bei optimalen Voraussetzungen konnten mit immunoelektrophoretischer Technik am Magensaft eine Albuminfraktion, 6 Komponenten zwischen Albumin und β-Globulin, im wesentlichen wohl α_1- und α_2-Globuline, eine langgestreckte β- sowie eine ebensolche γ-Fraktion dargestellt werden.

Insgesamt fanden sich beim Magensaft 9 Komponenten.

Die Analyse des *Vergleichsserums* erübrigt sich im vorliegenden Zusammenhang, da an anderer Stelle [8] wiederholt über immunoelektrophoretische Befunde normaler Seren berichtet wurde.

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß Magenschleimhaut, Magenwand und Magensaft bestimmte Charakteristika aufweisen. Insbesondere konnte durch die Kombination mehrerer Techniken eine Differenzierung der einzelnen Fraktionen und eine gegenseitige Abgrenzung der verschiedenen Substrate ermöglicht werden. Dabei wurde als Vergleichsstandard das Proteingemisch eines menschlichen Serums gewählt und eine Bestimmung der einzelnen Komponenten auf Grund ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit, ihrer Anfärbbarkeit mit Schiffschem Reagens oder mit Sudan-Schwarz vorgenommen. Außerdem wurden Methoden zum Nachweis von Fermentaktivitäten angewandt. Die jeweiligen Befunde wurden – wie schon erwähnt – auf die bekannten Fraktionen des menschlichen Serums bezogen und mit diesen verglichen. Dabei wurden die üblichen Bezeichnungen der Komponenten des Humanserums übernommen; allerdings

mit der Einschränkung, daß eine Identität der in den Extrakten gefundenen Proteine mit den menschlichen Serumproteinen zwar immunologisch, aber nicht ohne weiteres auch biochemisch als sicher anzunehmen ist.

1. Bei *papierelektrophoretischer Trennung* läßt sich bei Vergleich mit einem Serum an der Magenschleimhaut in besonderer Weise die Albuminvorfraktion, das Albumin und eine kräftige Komponente mit der Mobilität der α- und β-Globuline herausstellen. Auffällig ist die mit Hilfe der KH-Färbung unverhältnismäßig stark darstellbare γ_1-Fraktion der Schleimhautextrakte. Bemerkenswerterweise bleibt die Fuchsinfärbung nicht scharf auf den γ-Globulinbezirk beschränkt; sie ist vielfach bis in den $\beta+\gamma$-Raum ausgedehnt. Daraus ist zu schließen, daß alle im Schleimhautextrakt enthaltenen Komponenten identisch sind mit Glykoproteiden und daß offenbar KH-Proteinkomplexe im besonderen an die $\beta+\gamma$-Globulinfraktionen gebunden sind. Es ist auf Grund des färberischen Ergebnisses anzunehmen, daß es sich bei diesen im wesentlichen um Mukoproteide handelt. Im Serum findet sich eine derartig stark anfärbbare Komponente nicht. Die Albuminvorfraktion scheint kein Kohlenhydrat zu enthalten. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß sie möglicherweise infolge zu geringer Konzentration durch Färbung mit Schiffschem Reagens nicht erfaßt wurde.

In der Magenwand findet sich nur in Einzelfällen eine Albuminvorfraktion. Im übrigen sind die Albuminfraktion sowie eine Komponente mit der Mobilität der β-Globuline in der Magenwand oftmals noch stärker konzentriert als im Schleimhautextrakt. In Diskrepanz zur Magenschleimhaut läßt sich in der Magenwand nach KH-Färbung eine intensiver fuchsingefärbte Fraktion nicht darstellen. Stärkere Intensitätsschwankungen lassen sich auch bei den KH-gefärbten Proteinkomponenten nicht erkennen. Somit ist anzunehmen, daß in der Magenwand praktisch keine Schleimstoffe vorhanden sind.

Die Magensaftanalysen ergaben, soweit es sich um genügend eingeengte Extrakte handelte, Befunde, die im wesentlichen mit den in der Literatur bekannten übereinstimmten [4]. Auffällig ist wiederum bei der KH-Färbung, daß eine Komponente besonders stark angefärbt erscheint, die mit großer Wahrscheinlichkeit einem γ-Globulin zuzuordnen ist. Daraus ergibt sich wiederum, daß die Schleimstoffe aus Magenschleimhaut und -saft sich absolut entsprechen. Auf Grund unserer Färbeergebnisse auf Papier muß die Feststellung gemacht werden, daß offenbar Lipoproteidkomplexe, bzw. locker gebundene Lipoide in nur geringer Konzentration in den aufgetrennten Extrakten

von Magenschleimhaut, Magenwand und Magensaft enthalten sind. In 7 von 10 analysierten Extraktansätzen konnten praktisch keine einwandfreien Lipoidfärbungen erzielt werden. In den 3 übrigen Fällen waren jeweils 2 schwache lipoidgefärbte Komponenten im Bereich der α_3- und β-Globuline nachweisbar. Diese Befunde erlauben jedoch keine verbindlichen Schlußfolgerungen.

2. Bei *elektrophoretischer Trennung* der einzelnen Extrakte im *Agargel* ohne immunologische Reaktion erwiesen sich die hier erzielten Befunde trotz der unterschiedlichen Technik mit den papierelektrophoretischen Ergebnissen als übereinstimmend. Hervorzuheben sind hier nur noch folgende Besonderheiten. Es konnte mit der Agarelektrophorese weit eindrucksvoller als auf Papier gezeigt werden, daß bei Trennung der Magenschleimhaut regelmäßig ein deutlich vor der Albuminfraktion wandernder Proteinkomplex auftrat, während bei Trennung der Magenwand diese Vorfraktion weit schwächer war und außerdem nicht in allen Fällen nachgewiesen werden konnte. Eine Fermentaktivität, wie sie für diese Fraktion in der Literatur diskutiert wurde [3], ist an diese Fraktion nicht gebunden. Sie läßt sich mit den auch im Serum nachweisbaren Albuminvorfraktionen vergleichen, die schnellwandernde α-Proteine sind und als lipoid- und tryptophanreich differenziert werden konnten. In diesem Zusammenhang sei auch bemerkt, daß die als Albumin bezeichneten Proteine eine im Vergleich zum Serumalbumin größere Mobilität zeigen. Eindrucksvoll erschien uns dies besonders bei der Analyse des Magensaftes. Das Phänomen ist vielleicht so zu deuten, daß es sich bei dieser Fraktion um Albumine handelt, die infolge ihrer, gegenüber dem Serum, weitaus geringeren Konzentration eine größere Wanderungsgeschwindigkeit entwickeln. Es muß aber auch zur Diskussion gestellt werden, ob es sich bei dieser Komponente um Globuline vom Typ schnellwandernder α_1-Globuline des Serums handelt. Außerdem war auffällig, daß bei der Magenschleimhaut im Bereich der Albuminfraktion sowie der charakteristischen β-Komponente konstant reproduzierbar im ungefärbten Präparat eine gelbliche, nach Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10B, eine mehr grünliche Tönung auftrat. In der Schleimhaut war dieses Phänomen deutlicher sichtbar als in der Magenwand. Auch im Magensaft konnten grünlich-gelbe Tönungen, vorwiegend bei Darstellung von Albumin und ß-Globulin, beobachtet werden. Derartige Färbungen lassen Beimengungen von Bilirubin bzw. Hämoglobin vermuten. Die Fermentreaktionen im Agar lassen erkennen, daß in Magenschleimhaut und Magenwand aktive Gewebs-

oxydase nur in geringen Mengen vorhanden ist und weisen damit zugleich auf einen nur geringen Kupfergehalt dieser Substrate hin; erfahrungsgemäß ist die hier vorgenommene Färbemethode an die Coeruloplasminfraktion gebunden. Die besten Ergebnisse konnten mit der Schleimhaut erzielt werden, wobei im Bereich der Auftragstelle, im α_2-Bereich sowie in Spuren in einer Zone kathodenwärts vom Start eine schwach Braunfärbung entstand. Im Serum findet sich das fermentaktive Kupfer im α_2-Globulin [9, 11].

Die Reaktion zum Nachweis der alkalischen Phosphatase verlief ergiebiger. Die weitaus besten Ergebnisse zeigen sich bei der Auftrennung der Schleimhaut, wobei im Bereich des Auftragstriches und kathodenwärts bis in die Zone der γ-Globuline hinein eine rosige Farbtönung mit abnehmender Intensität in Richtung der γ-Globuline darstellbar wird, was auf eine Phosphataseaktivität vorwiegend der β- und γ-Globuline schließen läßt. Bei der Magenwand scheinen die mit Phosphataseaktivität besetzten Proteine mehr dem α- und β-Bereich anzugehören. Bei Prüfung des Magensaftes waren die kathodisch wandernden β-, in Spuren auch die γ-Globuline anfärbbar, Im Serum findet sich alkalische Phosphataseaktivität im Bereich der langsam wandernden α_2-Globuline, an der Auftragstelle und auch in einer Zone kathodenwärts von der Startlinie [13].

Bei der KH-Färbung in der Agarelektrophorese konnte zunächst festgestellt werden, daß im Serum praktisch alle Komponenten, besonders aber die α-Fraktionen mit Fuchsin darstellbar waren. In der Magenschleimhaut war die intensivste Anfärbbarkeit im Bereich des Auftragstriches; darüber hinaus ließen sich ebenfalls praktisch alle sonst mit der Proteinfärbung darstellbaren Komponenten anfärben. Relativ deutlich trat dabei die $\beta + \alpha$ -Fraktion hervor. Im Magenwandextrakt waren demgegenüber keine besonderen Kriterien nach KH-Färbung faßbar. Der Magensaft läßt jedoch in besonderer Weise eine KH-Färbung im Bereich der γ-Globuline erkennen.

Bei Lipoidfärbung im Agar war im Serum eine Zone im Bereich der α_1-Globuline einwandfrei anfärbbar. Bei der Magenschleimhaut konnten lediglich in einzelnen Fällen eine schwache Färbung im Bereich der α-Fraktionen und Spuren im Gebiet der β-Globuline aufgezeigt werden. Bei der Magenwand waren die Färbeerfolge noch geringer.

Somit zeigen die hier dargestellten Befunde mit den auf Papier erzielten Ergebnissen eine weitgehende Übereinstimmung. Darüber hinaus konnten mit der Agar-Technik noch etliche Besonderheiten an den einzelnen untersuchten Substraten nachgewiesen werden.

Die Beobachtungstatsache, daß in einzelnen von uns untersuchten Magenwandextrakten elektrophoretisch faßbare Abweichungen in der relativen Zusammensetzung der Organproteine mit Verminderung der Albumine und Vermehrung der langsam wandernden α- und β-Globuline auftraten, macht es wahrscheinlich, daß eine Umwandlung des Gewebes durch metaplastische oder carcinomatöse Prozesse mit einer Änderung in der Organeiweißkonstellation einhergeht. In den entsprechenden Fällen handelte es sich um carcinomatöse Strukturen, welche die Magenwand diffus durchsetzt hatten. Nach älteren Untersuchungen scheinen sich derartige Gewebsveränderungen bereits papierelektrophoretisch fassen zu lassen (2b).

Aus dem hier vorliegenden übrigen Untersuchungsgut muß andererseits abgeleitet werden, daß in Fällen mit umschriebenen malignen Wandveränderungen, d.h. in Gewebezonen von histologisch unverdächtigen Zellkomplexen elektrophoretisch keine faßbaren Veränderungen im Magenwandextrakt nachzuweisen sind. Dasselbe gilt auch für die Magenschleimhaut. Der Magensaft zeigt in solchen pathologischen Fällen meist eine stärkere Eiweißkonzentration, allerdings ohne nennenswerte Verschiebungen in der Relation der Proteine gegenüber dem hochkonzentrierten Magensaft eines Gesunden.

3. Bei der *immunoelektrophoretischen Analyse* sollten zwei Gesichtspunkte behandelt werden: einerseits, wieweit eine immunologische Identität der einzelnen Extrakte untereinander, ferner wieweit eine Identität der Organproteine mit den Proteinen des Serums besteht, andererseits, ob eine immunologische Charakterisierung der einzelnen Extrakte und eine Abgrenzung gegeneinander möglich ist.

Zur ersten Frage haben wir in einer früheren Arbeit [11] bereits Stellung genommen. Wie dort läßt sich auf Grund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse beweisen, daß zumindest eine immunologische Proteinverwandtschaft zwischen den Komponenten des menschlichen Serums und der Magenschleimhaut sowie zwischen den Proteinen der Magenwand und des Magensaftes und den Serumeiweißkörpern besteht.

Darüber hinaus wird wahrscheinlich, daß die mit einem Antihumanserum darstellbaren Präzipitationslinien durch gewisse Eigentümlichkeiten bzw. Eigengesetzlichkeiten entstanden sind, womit bis zu einem gewissen Grad auch ausgeschlossen wird, daß die vorliegenden Antigenantikörper-Systeme durch Blut- bzw. Serumbeimengungen bedingt sind. Die Untersuchungsergebnisse der Schleimhaut decken sich im wesentlichen mit den früher beschriebenen Befunden [11].

Die Resultate der Magensaftanalysen stehen in gutem Einklang mit Befunden, wie sie jüngst von *Fasel und Scheidegger* [4] veröffentlicht wurden. Schließlich lassen sich auf Grund der immunoelektrophoretischen Liniensysteme für die einzelnen Extrakte Kriterien aufstellen, die eine Abgrenzung von Magenschleimhaut, Magenwand und Magensaft desselben Individuums möglich machen; auf Grund einfacher papierelektrophoretischer Befunde gelingt dies nicht ohne weiteres.

So läßt die Magenschleimhaut mit Regelmäßigkeit mindestens eine Vorfraktion erkennen, es zeigt sich außerdem konstant die mit der α_X-Fraktion des menschlichen Serums vergleichbare Komponente, die in der Magenwand vermißt wird. Für den Magensaft lassen sich im β/γ-Bereich, im Gegensatz zur Magenwand, mehrere Komponenten mit unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeit abgrenzen; unter ihnen fallen zwei schwache, von der Auftragstelle bis in den γ-Bereich ziehende, zuäußerst des gesamten Proteinsystems verlaufende Linien auf, die trotz ihrer Zartheit regelmäßig reproduzierbar waren. Sie konnten in unseren Magenwandextrakten nie aufgezeigt werden. Für Magenwandextrakte ist demgegenüber eine relativ stark auspräzipitierte β_1-Fraktion charakteristisch, die wohl dem Siderophilin des menschlichen Serums entspricht. Die immunoelektrophoretischen Kriterien des Magensaftes wurden bereits oben beschrieben.

Eine Gegenüberstellung des Magensaftbefundes mit den Befunden von Magenwand und Magenschleimhaut läßt also einige grundlegend verschiedene Wesenszüge dieser Substrate erkennen. Eine konsequente Identifizierung der immunoelektrophoretisch faßbaren Proteinsysteme der verschiedenen untersuchten Extrakte mit den Serumproteinen ist bei der gewählten Versuchsanordnung nicht zuverlässig möglich. Immerhin ist es bemerkenswert, daß die funktionelle Einheit des Organs Magen bereits durch die hier angewandten Methoden in objektiv differenzierbare Details mit unterschiedlichen quantitativen und auch qualitativen Eigenschaften aufgegliedert werden kann.

Zusammenfassung

Von Magenschleimhaut- und Magenwandextrakten und vom Magensaft des Menschen wurden vergleichende papier-, agar- und immunoelektrophoretische Analysen unter Verwendung zusätzlicher Färbe- und Fermentmethoden vorgenommen. Die Differenzierung der Proteine dieser verschiedenen Substrate erfolgte durch Vergleich mit Serumproteinen des Menschen. Die Ergebnisse dieser Analysen lassen

für jeden der untersuchten Extrakte bestimmte Charakteristika erkennen. Die in den verschiedenen Substraten nachgewiesenen Organproteine zeigen eine weitgehende immunologische Identität mit den artgleichen Serumproteinen. Pathologisch veränderte Organe wiesen nur zum Teil und hier auch wieder nur quantitative Verschiebungen in der Relation der Proteinsysteme auf.

Summary

Comparative paper, agar and immune electrophoretic analyses of extracts from human gastric mucosa and stomach wall and of gastric juice were performed with the aid of supplementary staining and enzymatic methods. Differentiation of the proteins from the different substrates was achieved by comparison with human serum proteins. The results of these analyses make it possible to recognize certain characteristic features for each of the extracts examined. The organ proteins found in the substrates show extensive identity with serum proteins of the same species. Only some preparations from diseased organs showed deviations in the relations of the protein systems and these also were merely quantitative.

Résumé

Les auteurs ont pratiqué des analyses électrophorétiques de la muqueuse et du suc gastriques et d'extraits de paroi de l'estomac; ces analyses ont comporté des comparaisons entre les méthodes sur papier, sur agar et par immuno-électrophorèse, ainsi que par les techniques colorimétrique et enzymatique.

La différenciation des protéines de ces différents substrats fut établie par comparaison avec les protéines du sérum humain.

Les résultats de ces analyses ont permis de déterminer les caractéristiques de chaque extrait; mais les protéines organiques des divers extraits montraient une identité remarquable avec celles des protéines sériques. Dans les organes pathologiques, les modifications de l'équilibre protéique étaient faibles et seulement quantitatives.

Literatur

1. *Barta, K.* und *Tichy, J.*: Zur Frage der Hyperproteinämie bei Magenpolypen. Immunologische Untersuchungen über die Eiweißstoffe im Magensaft. Gastroenterologia *96:* 12–25 (1961).

2. *Demling, L.:* a) Elektrophoretische Aufspaltung von Organeiweiß. Klin. Wschr. *30:* 74 (1952). – b) Neoplasmen im Elektrophoresebild. Ärztl. Forsch. *8/I:* 154–157 (1954).
3. *Demling, L., Kinzlmeier, H.* und *Henning, N.:* Über die quantitative Zusammensetzung der Organproteine (elektrophoretische Untersuchungen). Z. ges. exp. Med. *122:* 416–430 (1954).
4. *Fasel, J.* et *Scheidegger, J. J.:* Étude immuno-électrophorétique des sucs gastriques humains normaux et pathologiques. Gastroenterologia *94:* 236–250 (1960).
5. *Götz, H.; Berg, G.* und *Scheiffarth, F.:* Methodische Grundlagen der Immunoelektrophorese. Z. ImmunForsch. *114:* 72–84 (1957).
6. *Grabar, P.* et *Williams, C. A.:* Méthode permettant l'étude conjugée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. Biochim. biophys. Acta *10:* 193–194 (1953).
7. *Henning, N.; Demling, L.* und *Kinzlmeier, R.:* Weitere Untersuchungen über die elektrophoretische Aufspaltung von Organproteinen. Klin. Wschr. *31:* 435 (1953).
8. *Scheiffarth, F.* und *Götz, H.:* Die Bedeutung der Immunoelektrophorese bei der Differenzierung pathologischer Seren. Int. Arch. Allergy *16:* 61–92 (1959).
9. *Scheiffarth, F.; Götz, H.* und *Czagany, F.:* Zur quantitativen Bestimmung der Coeruloplasminkonzentration im Serum. Med. Welt *1961:* 1449–1453 (Nr. 28).
10. *Scheiffarth, F.; Götz, H.* und *Knopff, H.:* Die Bedeutung kombinierter Färbeverfahren nach immunoelektrophoretischer Analyse pathologischer Seren. Acta haemat. *26:* 169–181 (1961).
11. *Scheiffarth, F.; Götz, H.* und *Schernthaner, G.:* Immunoelektrophoretische Studien zur Frage der Identität menschlicher Organ- und Serumproteine. Clin. chim. Acta *6:* 481–492 (1961).
12. *Scheiffarth, F.; Götz, H.* und *Thuma, G.:* Immunoelektrophoretische Untersuchungen zur Frage der Identität menschlicher Organ- und Serumproteine. Clin. chim. Acta (im Druck).
13. *Scheiffarth, F.; Warnatz, H.* und *Götz, H.:* Zum qualitativen und quantitativen Nachweis der alkalischen Phosphatase im Serum mit Hilfe der Agarelektrophorese. Med. Welt *1961:* 2216–2220 (Nr. 43).
14. *Uriel, J.:* Étude de l'activité enzymatique de la céruloplasmine du sérum humain après électrophorèse en gélose. Bull. Soc. Chim. biol. *39:* Suppl. I, 105–118 (1957).
15. *Uriel, J.* et *Grabar, P.:* Emploi de colorants dans l'analyse électrophorétique et immuno-électrophorétique en milieu gélifié. Ann. Inst. Pasteur *90:* 429 (1956).
16. *Uriel, J.; Grabar, P.* et *Wunderly, Ch.:* Étude d'un sérum de macroglobulinémie par l'électrophorèse en gélose et sur papier et par ultracentrifugation. Clin. chim. Acta *2:* 35–42 (1957).

Adresse der Autoren: Dr. H. Götz, Prof. Dr. F. Scheiffarth und Dr. I. Dübeler, Medizinische Universitätsklinik, *Erlangen* (Deutschland)

An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. N. Henning für die Übernahme des Referates ergebenst gedankt.

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und für alles Entgegenkommen danken, das er mir während der Arbeit zuteil werden ließ.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Frl. Dr. H. Götz, die mir in selbstloser Weise mit Rat und Tat zur Seite stand, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Der chirurgischen Klinik sei schließlich für die freundliche Überlassung der Resektionspräparate gedankt.

LEBENSLAUF

Am 9. 8. 1938 wurde ich, Ingrid Dübeler, als Tochter des Mittelschuloberlehrers Heinz Dübeler und seiner Ehefrau Irmgard Dübeler, geb. Etzold, in Leipzig geboren.

Im September 1944 trat ich in die Schule ein und besuchte 4 Jahre lang nacheinander die Volksschulen in Geigant, Waldmünchen und Treffelstein in der Oberpfalz. 1948 kam ich in die Oberrealschule nach Cham (Opf.). 1954 übersiedelten wir nach Schwandorf/Opf., wo ich im Sommer 1957 an der staatlichen Oberrealschule die Reifeprüfung ablegte.

Mein medizinisches Studium begann ich im Wintersemester 1957/58 an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen. Nach 2 Semestern unterzog ich mich der ärztlichen Vorprüfung. Nach weiteren 3 Semestern legte ich im Frühjahr 1960 das Physikum ab. Meine gesamte bisherige Studienzeit hindurch war ich an der Erlanger Universität eingeschrieben.

Zur Zeit befinde ich mich im 4. klinischen Semester und beabsichtige, nach dem Wintersemester 1962/63 das medizinische Staatsexamen hier abzulegen.

Erlangen, den 14. 11. 1961

Ingrid Dübeler

Am 2. August 1963 habe ich mein Staatsexamen an der hiesigen Universität bestanden.